

Aus der Augenklinik und Poliklinik der Freien Universität
Berlin, Klinikum Westend
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. J. Wollensak

**DARSTELLUNG DER STREUENDEN EIGENSCHAFTEN
DES CORNEASTROMAS AN EINEM MODELL**

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Claudia-Regine Laudon
geb. in Berlin

1984

Aus der Augenklinik und Poliklinik der Freien Universität
Berlin, Klinikum Westend
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. J. Wollensak

DARSTELLUNG DER STREUENDEN EIGENSCHAFTEN
DES CORNEASTROMAS AN EINEM MODELL

Inaugural - Dissertation
zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Claudia-Regine Laudon
geb. in Berlin

Referent: Prof. Dr. med. J. Wollensak

Korreferent: Prof. Dr. med. H. Witschel

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fachbereiche der
Freien Universität Berlin

Promoviert am: 8.10.1984

Inhalt

1	Grundlagen	4
1.1	Aufbau der Cornea, insbesondere des Corneastromas	4
1.2	Transparenz der Cornea -Theorien-	10
1.3	Veränderung der mikroskopischen Struktur in der getrübbten Cornea -Theorien-	16
2	Versuche	19
2.1	Fragestellung	19
2.2	Das Modell	19
2.3	Versuchsaufbau	20
2.4	Auswertungsverfahren	23
2.5	Messungen	28
3	Ergebnisse	38
4	Zusammenfassung	42
5	Anhang	44
6	Literaturverzeichnis	53
	Lebenslauf	

1 Grundlagen

Transparenz, eine essentielle Eigenschaft der Cornea, ist seit den ersten Arbeiten von MAURICE (1957) das Thema intensiver Studien gewesen. Es wurde versucht, mit verschiedenen experimentellen und theoretischen Methoden die strukturellen und physikalischen Grundlagen der Transparenz der Cornea und des Transparenzverlustes zu erklären. Heute stehen sich zwei Theorien gegenüber, die in der vorliegenden Arbeit erläutert und mit Hilfe von Streuungsmessungen an einem Modell des Corneastromas aus Acrylglas überprüft werden sollen. In den folgenden einführenden Kapiteln sollen der strukturelle Aufbau des Corneastromas als Voraussetzung für ihre Transparenz und die Vorstellungen verschiedener Schulen von den Veränderungen, die zur Undurchsichtigkeit führen, erläutert werden.

1.1

Aufbau der Cornea, insbesondere des Corneastromas.

Einen Überblick über die Schichtung der Cornea gibt das mikroskopische Querschnittsbild Abbildung 1.

EPITHELIUM

BOWMAN'S
MEMBRANE

STROMA

DESCEMET'S
MEMBRANE

ENDOTHELIUM

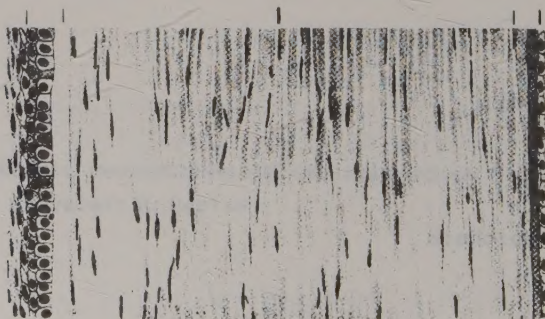


Abb. 1: Schichten der Cornea, aus Physiology of the Eye, Davson, 4. Aufl., 1980

Das Corneaepithel besteht aus fünf bis sechs Zellschichten mit einer Gesamtdicke von 50-100 μm . Seine besondere Eigenschaft ist die schnelle Regenerationsfähigkeit, seine Hauptaufgabe die Regulation des Wassergehaltes der Cornea.

Die unter dem Epithel liegende Bowmann'sche Zone grenzt sich vom Stroma nur wenig ab und ist dessen Struktur sehr ähnlich. An das Corneastroma schließt sich die 5-10 μm dicke Descemet'sche Membran an, die sich durch besondere Festigkeit auszeichnet und sich in ihrer mikroskopischen Struktur und in ihrer chemischen Zusammensetzung vom Stroma deutlich unterscheidet. Nach hinten wird die Cornea durch ein Endothel abgegrenzt, bestehend aus flachen, breiten Zellen mit besonders festen interzellulären Kontakten. Das Endothel wirkt wie das Epithel als semipermeable Membran und hält durch aktiven Ionentransport den Wassergehalt des Corneaparenchyms konstant.

Substanzen	%
Wasser	78
Kollagen	15
andere Proteine	5
Keratansulfat	0,7
Chondroitinsulf.	0,3
Salze	1

Tab. 1: Chemische Zusammensetzung des Corneastromas. Nach D.M. MAURICE, aus "The Eye", Ed. Davson, Vol I, pp 489-600, London, Academic Press 1969

Das Corneastroma macht 90 % der Gesamtdicke aus und ist von entscheidender Bedeutung für die Transparenz der Cornea. Es ist ein modifiziertes Bindegewebe, dessen besondere Merkmale, Transparenz und Festigkeit, sonst in keinem Bindegewebe gemeinsam zu finden sind. Jedes Bindegewebe besteht aus Zellen, kollagenen Fibrillen und einer Grundsubstanz. In der menschlichen Cornea liegen Lamellenschichten kollagenen Materials parallel zur Oberfläche; dazwischen liegen Stromafibrozyten, Blutgefäße fehlen. Dagegen wurden bei bestimmten Tierarten

vaskularisierte Hornhäute gefunden (DUKE-ELDER 1958, MARTINO 1941, VRABEC 1965). Die chemische Zusammensetzung des Corneastromas, von MAURICE und RILEY (1968) untersucht, ist aus Tabelle 1 ersichtlich.

Lichtmikroskopisch erscheinen die Stromalamellen in normal gefärbten histologischen Schnitten strukturlos und schwer voneinander abgrenzbar. In besonders dünnen Schnitten kann man nach Injektion von Chromsäure in den interstitiellen Raum eine fibrilläre Struktur der einzelnen Lamellen erkennen und den Verlauf der Fibrillen verfolgen. Die Fibrillen liegen innerhalb einer Lamelle parallel zueinander (H. VIRCHOW 1910).

Bei niederen Tierarten liegen die Lamellen als runde Scheiben mit einem Durchmesser, der etwa dem der Cornea entspricht, etwa wie Geldstücke in einer Geldrolle hintereinander. Die Fibrillen sollen in übereinanderliegenden Lamellen in rechten Winkeln zueinander verlaufen (H. VIRCHOW 1910, PAYRAU 1967). Bei Wirbeltieren und beim Menschen soll nicht jeweils eine Lamelle in einer Schicht den ganzen Durchmesser der Cornea einnehmen, sondern es sollen viele, sich über- und unterkreuzende Lamellen (besser: Bänder, PAYRAU 1967, S. 63) unterschiedlicher Breite von Limbus zu Limbus reichen (Abb. 2)

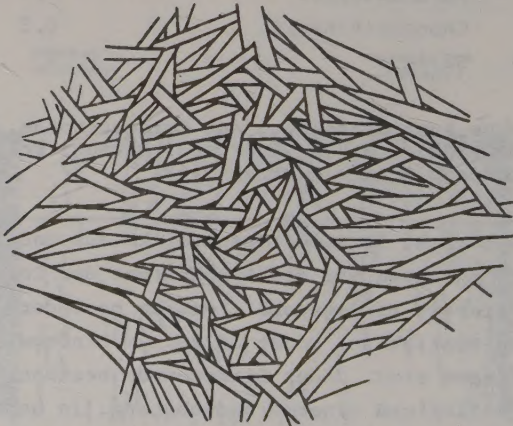


Abb. 2: Darstellung des Verlaufs der Kollagenlamellen der menschlichen Cornea, nach W. KOKOTT, aus "Physiology of the Eye", Vol. 2, by S. DUKE-ELDER

Diese Lamellen sollen nach HIS (1856) 90-260 μm breit sein. Ihre Dicke betragt nach SALZMANN (1912) 1,5-2,5 μm , nach SCHWARZ und KEYSERLINCK (1966) 750nm-5 μm . Fur die gesamte Dicke der Cornea ergibt sich eine Zahl von ca. 200 Lamellen. Elektronenmikroskopische Untersuchungen (JAKUS 1954, 1961, SCHWARZ 1953) belegen, daß sich die Lamellen aus parallel zueinander verlaufenden Kollagenfibrillen etwa gleichen Durchmessers zusammensetzen, die in Grundsubstanz eingebettet sind (siehe Abb. 3). Der Durchmesser der Fibrillen betragt nach JAKUS (1961) 19-34 nm, nach SCHWARZ (1953) 25-33 nm und nach SCHWARZ und KEYSERLINCK (1966) 23-27 nm. Die Spannbreiten der Durchmesser ergeben sich nach JAKUS aus einer Diczunahme der Fibrillen von den anterioren zu den posterioren Schichten.

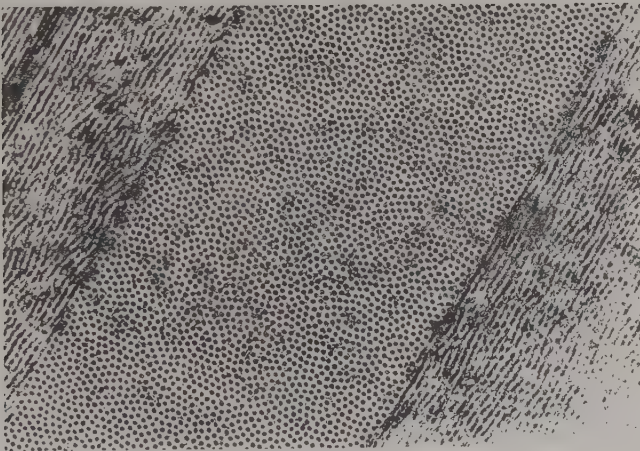


Abb. 3: Elektronenmikroskopische Aufnahme des normalen menschlichen Corneastromas. (aus Physiology of the Eye, Davson, 4. Aufl., 1980)

Der Zwischenraum der Fibrillen betragt 10-40 nm, im Mittel 25 nm (SCHWARZ und KEYSERLINCK 1966).

MAURICE (1957) postulierte nach eigenen elektronenmikroskopischen Untersuchungen eine systematische Fibrillenordnung,

die im Querschnitt einer Lamelle ein hexagonales Gitter ergeben würde (siehe Abb. 4). In unfixierten Lamellen (SCHWARZ 1953 , ROUILLER et al. 1954) konnte schon früher eine beachtliche Ordnung im Fibrillensystem gezeigt werden. In elektronenmikroskopischen Untersuchungen anderer Autoren wurde ein so streng geordnetes System, wie es MAURICE sich vorstellte, nicht nachgewiesen (SCHWARZ und KEYSERLINCK 1966, GOLDMANN und BENEDEK 1967, COX und Mitarbeiter 1970, BENEDEK 1971). Hierbei ist allerdings zu beachten, daß bei der Fixierung und Verarbeitung des Materials zur Elektronenmikroskopie die Fibrillenanzordnung bereits zerstört worden sein könnte, dies konnte in Röntgenbeugungsexperimenten an Zellmembranen von Bakterien gezeigt werden.

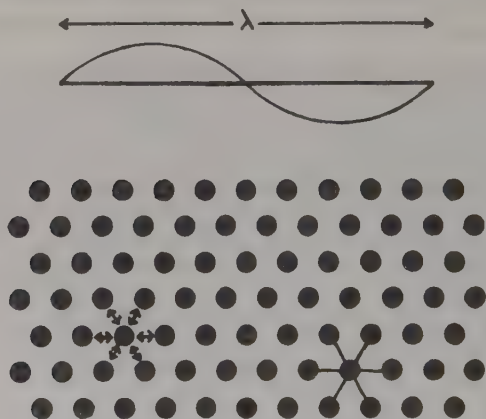


Abb. 4: Schemadarstellung der Fibrillenanzordnung im hexagonalen Gitter, nach MAURICE

In Röntgenbeugungsexperimenten an der normalen menschlichen Cornea wurde ein geordnetes Fibrillenmuster über einen Bereich von mindestens 400 nm (eine Wellenlänge) nachgewiesen (SEILER et al. 1983, siehe auch GOODFELLOW 1978).

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen von SCHWARZ (1953), JAKUS (1954), FRANCOIS et al. (1954) und anderen zeigten, daß die Fibrillen die charakteristische Kollagenperiodi-

zität von 64 nm haben. FRANCOIS und RABAEY (1959) fanden außer dieser eine zusätzliche Periodizität und unterteilten die 64 nm-Perioden in drei Untereinheiten à 21 nm (siehe auch HOSEMAN et al. 1980).

Für den Zusammenhalt der Kollagenfibrillen sind die Glykosaminoglykane der Grundsubstanz verantwortlich. Über die Art der Bindung zwischen Kollagen und Glykosaminoglykanen bestehen noch keine gesicherten Vorstellungen. Die Glykosaminoglykane, die selbst an lösliche Proteine gebunden sind und dann als Proteoglykane bezeichnet werden, scheinen keine feste chemische Verbindung mit dem Kollagen einzugehen, denn sie lassen sich schon durch schonende Trennverfahren von diesen lösen. Es bestehen aber sicherlich Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Kollagen und Proteoglykanen. Diese Interaktionen sind bedeutsam für den Zusammenhalt und die exakte parallele Anordnung der Fibrillen. Ein von MATHEWS (1965) entwickeltes Modell ist aus Abb. 5 ersichtlich.

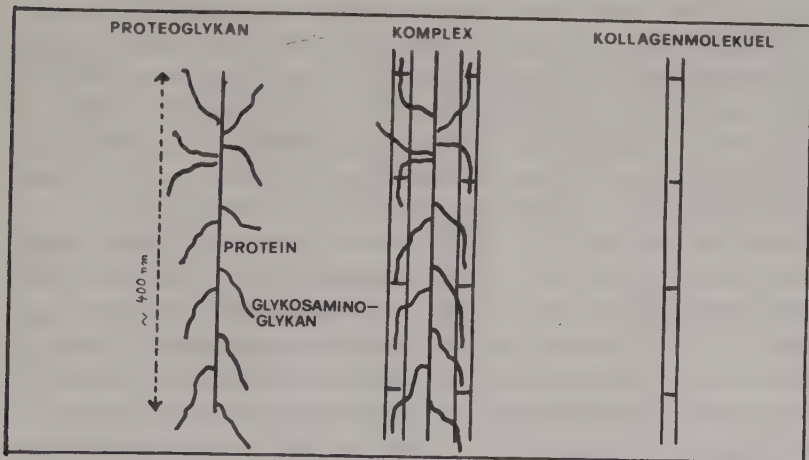


Abb. 5: Schema der Interaktion zwischen Kollagen und Proteoglykan. (nach MATHEWS, 1965, aus "La Transparence de la Cornée", Payrau et al., 1967)

Die Glykosaminoglykane sind gleichzeitig wesentlich an der Aufrechterhaltung des cornealen Hydratationsstatus beteiligt, da sie ein effektives hydrodynamisches Volumen besitzen, das bis zum tausendfachen ihres Trockengewichts ansteigt.

1.2

Transparenz der Cornea

Ein durch ein transparentes Medium fallender Lichtstrahl darf in seiner Intensität geschwächt und abgelenkt, nicht aber verbreitert werden oder sich vervielfachen. Dies bedeutet, daß für homogene Substanzen der einheitliche Brechungsindex für die Durchsichtigkeit entscheidend ist. Nach VON SMOLUCHOWSKY (1908) und EINSTEIN (1910), die das Verhalten von Lichtwellen in Stoffen, in denen Partikel in geordneten und zufälligen Verteilungen gelöst sind, untersuchten, ist ein Medium dann transparent, wenn die Dichte der streuenden Elemente an allen Stellen gleich groß ist oder wenn die vorhandenen Inhomogenitäten kleiner sind als die halbe Wellenlänge des Lichts. Erst wenn in einem Medium periodisch Inhomogenitäten vorhanden sind, die selbst oder deren Periode größer als die halbe Wellenlänge sind, kommt es zur Lichtstreuung. Die normale Cornea erfüllt die Voraussetzungen eines transparenten Mediums. Sie absorbiert im sichtbaren Spektrum nicht (KINSEY 1948, OGILVIE 1953, BOETTNER und WOLTER 1962, PAYRAU et al 1967), und weniger als ein Prozent des Lichts wird durch sie gestreut. Diese sehr geringe Streuung macht das Stroma in der Spaltlampe sichtbar (MAURICE 1969). Ursache für die Transparenzminderung der getrübbten Hornhaut ist eine vermehrte Lichtstreuung. Die geringe Intensitätsminderung, die der Lichtstrahl beim Durchtritt durch die Cornea erfährt, spielt für die Transparenz nur eine untergeordnete Rolle: wenn man zum Beispiel dunkle Gläser, die die Lichtdurchlässigkeit um zehn Prozent verringern, vor das Auge bringt, so hat diese Intensitätsminderung keinen Einfluß auf die Form des auf der Netzhaut entstehenden optischen Bildes, da die Lichtstrahlen zwar geschwächt, nicht

aber gestreut werden. Die Schwächung kann durch einen Verstärkungsmechanismus im neuronalen Netzwerk der Retina ausgeglichen werden. Ein trüber Schirm, vor das Auge gebracht, beeinflußt die Menge des durchgelassenen Lichts wenig, durch Lichtstreuung ist aber keine genaue Bildentstehung auf der Netzhaut möglich.

Welche Strukturen innerhalb der Cornea bedingen nun die Transparenz beziehungsweise die Trübung? Die gröberen Struktureinheiten, die Lamellen, scheinen es nicht zu sein, denn im Spaltlampenmikroskop erscheinen sie in der gequollenen Cornea selbst getrübt (MAURICE 1957). Das Fehlen lichtmikroskopisch auflösbarer Strukturen und die Tatsache, daß Licht kleinerer Wellenlängen mehr gestreut wird als Licht größerer Wellenlängen, legen nahe, daß die Größe der Streuzentren außerhalb des lichtmikroskopischen Bereichs liegen müsse. Es scheint also die Anordnung der Kollagenfibrillen für die mehr oder weniger starke Lichtstreuung verantwortlich zu sein (MAURICE 1957). Für die Frage, warum die Lichtstreuung in der normalen Cornea so gering ist und welche Veränderungen in der getrühten Cornea stattfinden, hat sich bis heute noch keine allgemeingültige Erklärung durchgesetzt. Die unterschiedlichen Vorstellungen der einzelnen Schulen sollen im Folgenden in chronologischer Reihenfolge verdeutlicht werden. Erste Vorstellungen zur Erklärung der Transparenz basierten auf der Annahme, daß das Kollagen und die Grundsubstanz des Corneastromas den gleichen Brechungsindex haben (SCHWARZ 1953, DAVSON 1955).

MAURICE stellte 1957 diese "Brechungsindextheorie" in Frage. Doppelbrechungsmessungen von NAYLOR (1953) und MAURICE (1957) zeigten, daß das Corneastroma optisch anisotrop ist und daß der Brechungsindex des Kollagens signifikant höher ist als der der Grundsubstanz. Nach AUBERT und MATTHIESSEN (1876) beträgt der Brechungsindex des trockenen Kollagen 1,55, der der Grundsubstanz 1,345. Setzt man diese in vitro-Werte als richtig voraus, wäre ein einheitlicher Brechungsindex in vivo nur zu erreichen, wenn die Fibrillen solange Wasser aufnehmen würden, bis ihr Brechungsindex auf 1,38 abfallen würde. Dadurch würde

die Grundsubstanz so konzentriert, daß ihr Brechungsindex sich dem der Fibrillen angleichen würde. Der Durchmesser der Fibrillen würde dann aber verdoppelt und die kleineren Unter-einheiten, die Kollagenprotofibrillen, würden erheblich auseinandergerückt. Eine solche Struktur läßt sich mit den elektronenmikroskopischen Bildern nicht vereinbaren; auch haben Röntgenbeugungsexperimente niemals einen derart großen Protokollagenfibrillenabstand gezeigt. Weiterhin wäre der sich unter diesen Bedingungen erheblich verschmälernde Zwischenraum zwischen den Fibrillen nicht mit der Beobachtung in Einklang zu bringen, daß durch die Zwischenräume der normalen Cornea auch große Moleküle diffundieren können.

MAURICE nahm dann an, daß jede Kollagenfibrille für sich unabhängig einen Teil des Lichts streut. Seine Berechnungen ergaben allerdings, daß unter dieser Voraussetzung über neunzig Prozent des einfallenden Lichts gestreut würden und die Cornea somit fast völlig undurchsichtig sein müßte.

Wenn also nicht jede Kollagenfibrille für sich streut, muß nach MAURICE die Gesamtheit der Fibrillen in ihrer Anordnung für die Streuung verantwortlich sein. MAURICE's Theorie basiert auf dem von ihm postulierten exakten System in der Fibrillenanordnung. Seiner Meinung nach kann man die parallel zueinander in einem hexagonalen Muster angeordneten Fibrillen gleichen Durchmessers, die in eine Grundsubstanz unterschiedlichen Brechungsindexes eingebettet sind, mit einem physikalischen Kristallgitter vergleichen. Die physikalische Grundlage hierfür, die Beugung am optischen Gitter, ist in Abbildung 6 dargestellt.

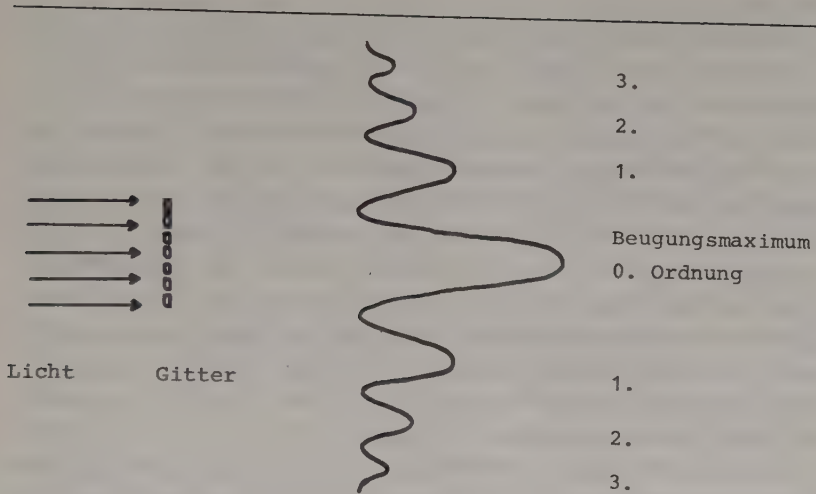


Abb. 6: Beugung am optischen Gitter.

Durch Überlagerung der von den Spalten des Gitters ausgehenden Elementarwellen (HUYGENS'sches Prinzip) entsteht das obige Beugungsmuster. Der Abstand der Beugungsmaxima hängt vom Verhältnis von Gitterkonstante und Wellenlänge ab.

Je kleiner dieses Verhältnis ist, desto weiter rücken die Beugungsmaxima auseinander. Das größte Maximum (0. Ordnung) wird durch die Lichtwellen gebildet, die parallel zur optischen Achse laufen. Man kann die Spalte soweit verkleinern, daß nur noch das Interferenzmaximum 0. Ordnung zur Abbildung kommt. Abgesehen von Verlusten durch Reflexion und Absorption ist das Gitter dann transparent. Auf die Cornea bezogen wirken jede Reihe von Fibrillen und die Anordnung als Ganzes als Beugungsgitter mit Zwischenräumen, die wesentlich kleiner sind als die Wellenlänge des Lichts. Somit würde die diffuse Streuung durch das Gitter durch destruktive Interferenz gelöscht und das Stroma wäre transparent.

In elektronenmikroskopischen Aufnahmen findet man große Bereiche, in denen die von MAURICE vorausgesetzte exakte Anordnung der Kollagenfibrillen nicht zu finden ist.

Bemerkenswert ist dabei, daß die Bowmann'sche Membran des Hundshais, *Squalis acanthius*, in der die Fibrillen in völlig ungeordneter Form liegen, genauso transparent ist, wie das menschliche Corneastroma (GOLDMAN und BENEDEK 1967).

MAURICE's Vorstellungen widersprach SMITH (1968), der die von AUBERT und MATTHIESEN errechneten Werte für die Brechungsindizes der Bestandteile des Corneastromas (Kollagen 1,55; Grundsubstanz 1,345) anzweifelte, da seiner Meinung nach die Kollagenfibrillen in vivo mehr hydratisiert seien als MAURICE annimmt und somit der Brechungsindex geringer sein müßte. Er berechnete aus elektronenmikroskopischen und chemischen Daten Werte von 1,384 für das Kollagen und 1,369 für die Grundsubstanz und folgerte, daß die Transparenz das Resultat dieser ähnlichen Brechungsindizes sein müßte.

Auch COX und Mitarb.(1970) sind der Meinung, daß die Fibrillen in vivo hydratisiert sind und dadurch ihr Brechungsindex niedriger ist als der von trockenem Kollagen. Sie können aber eine derartige Annäherung der beiden Brechungsindizes nicht nachvollziehen.

Im Gegensatz zu MAURICE, für dessen Überlegungen eine streng systematische Fibrillenordnung die Grundvoraussetzung ist, steht eine Gruppe von Wissenschaftlern, die Transparenzuntersuchungen unter der Voraussetzung einer mehr oder weniger ungeordneten Fibrillenverteilung machten. Deren elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigten eine überwiegend zufällige Verteilung der Kollagenfibrillen mit dazwischenliegenden Bereichen hoher Ordnung im Sinne eines hexagonalen Gitters über Distanzen, die etwa der Wellenlänge des Lichts entsprachen. GOLDMAN und BENEDEK (1968) und BENEDEK (1971) wendeten die Beugungstheorie von v. SMOLUCHOWSKY und EINSTEIN für zufällige Stoffverteilungen auf die Streuvorgänge in der Cornea an. Da danach die Transparenz eines inhomogenen Mediums von der Größe der Inhomogenitäten im Vergleich zur Wellenlänge des Lichts abhängt, halten sie die perfekte Regularität in der Fibrillenordnung nicht für notwendig. Streuung findet erst statt, wenn in einem Medium Inhomogenitäten größer sind als die halbe Wellenlänge.

In der Sklera haben Abstände und Durchmesser der Fibrillen eine mit der Wellenlänge vergleichbare Größe, sie stellen Dichteschwankungen dar, an denen das Licht erheblich gestreut wird. Als Folge davon ist die Sklera trüb und undurchsichtig BENEDEK 1973, Zitat: "... Thus, in the sclera substantial fluctuations in the density of the medium are taking place on a scale comparable to the light wavelength. As a result there is very great scattering of light. The sclera becomes so turbid that it is opaque."

Weitere Bestätigung, daß die elektronenmikroskopisch gezeigte relativ ungeordnete Struktur mit Transparenz vereinbar ist, lieferten HART und FARRELL (1968) und COX, FARRELL, HART und LANGHAM (1970), die detailliert die Paarverteilungsfunktion der Kollagenfibrillen aus elektronenmikroskopischen Bildern errechneten. Diese Verteilungsfunktion zeigte, daß gleiche Fibrillenabstände im Sinne eines Gitters über höchstens 200 nm vorhanden waren. Durch eine mathematische Analyse der Phasen der durch ein solches System gebeugten Lichtwellen konnten die Autoren zeigen, daß sowohl Größe als auch Wellenabhängigkeit des gestreuten Lichts mit experimentellen Werten übereinstimmten.

Auch FEUK (1970) beobachtete eine zufällige Fibrillenverteilung um Areale einer perfekten Gitterstruktur herum. Mit Hilfe der Streutheorie nach DEBYE berechnete er die Lichtstreuung durch eine solche Fibrillenordnung und konnte ebenfalls eine Übereinstimmung zwischen experimentellen und berechneten Werten zeigen.

Zur Beurteilung der genannten Arbeiten muß bemerkt werden, daß die Autoren, die davon ausgegangen sind, daß die Fibrillenverteilung in ihren elektronenmikroskopischen Bildern der Verteilung in vivo entspricht, eine eventuelle Zerstörung des Fibrillensystems durch Fixierung aber nicht ausschließen konnten.

1.3 Veränderungen der mikroskopischen Struktur in der getrübten Cornea

Es stellt sich die Frage, welche Veränderungen in der Ultrastruktur der Cornea stattfinden müssen, damit die Cornea eintrübt und so ihre Transparenz verliert.

Bekanntermaßen schwillt die Cornea in vivo und in vitro durch die Aufnahme von Wasser und bekommt in gequollenem Zustand ein trübes Aussehen. Ort der Wasseraufnahme sind die Cornealamellen; es fand sich keine darstellbar Quellung in den Kera- tozyten oder in den interlamellären Räumen. Es konnte auch gezeigt werden, daß die Kollagenfibrillen ihren Durchmesser nicht ändern (COX, FARRELL, Hart und LANGHAM, 1970). Daraus folgt, daß die Wassereinlagerung in der Grundsubstanz stattfinden muß. Der genaue Vorgang der Wassereinlagerung ist noch nicht geklärt, in jedem Fall aber sind die Glykosaminoglykane wesentlich daran beteiligt.

Mit der Trübung der Cornea verändern sich ihre optischen Eigenschaften: der gestreute Anteil des einfallenden Lichts wächst bis auf fünfzig Prozent an.

Die Gittertheorie von MAURICE würde die Transparenzminderung der gequollenen Cornea einfach erklären. Nach MAURICE trennen sich die Fibrillen während des Quellungsvorgangs auch in Richtung senkrecht zur Oberfläche (Abb. 7). Damit ist das perfekte hexagonale Gitter zerstört, eine auslöschende Interferenz ist nicht mehr möglich, und es kommt zu vermehrter Lichtstreuung.

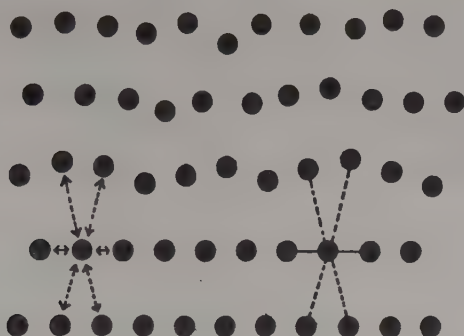


Abb. 7: Veränderung der Anordnung der Kollagenfibrillen in der getrübbten Cornea, nach MAURICE, zum Vergleich siehe Abb. 4.

Andere Autoren, die das Gittermodell als Erklärung für die Transparenz der Cornea ablehnen, haben entsprechend auch eine andere Vorstellung von der Veränderung der mikroskopischen Struktur in der getrübbten Cornea.

BENEDEK, der bereits im normalen transparenten Zustand eine ungeordnete Fibrillenverteilung voraussetzt, ist der Meinung, daß nur bei Trübung entstehende Regionen stark unterschiedlicher Kollagendichte eine Transparenzminderung erklären können. Um einen lichtstreuenden Effekt zu haben, müßten diese Regionen wenigstens halb so groß wie die Wellenlänge des Lichts sein.

Den experimentellen Nachweis für das Vorhandensein solcher Dichteschwankungen in der getrübbten Cornea erbrachten GOLDMAN et al. 1968 und FARRELL et al. 1973. In elektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigten sie, daß in opaken, ödematösen Hornhäuten kollagenfreie Zonen vorhanden waren, die in ihrer Größe mit der Wellenlänge des Lichts vergleichbar waren (Abb. 8).

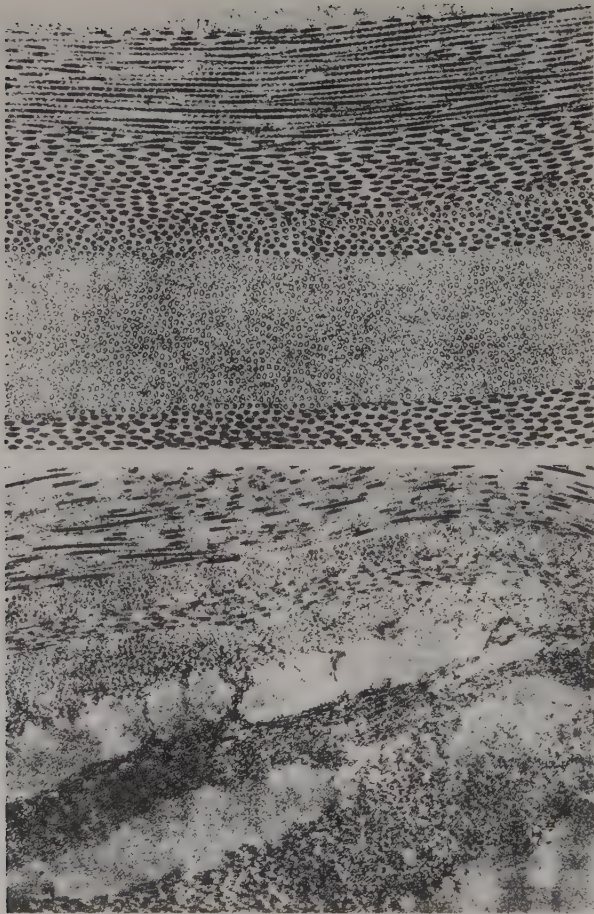


Abb. 8: Das obere elektronenmikroskopische Bild zeigt die nicht hexagonale Anordnung der Kollagenfibrillen einer nicht getrübten Cornea. Das untere Bild zeigt die kollagenfreien Zonen in einer getrübten Cornea (aus "Intraocular Light Scattering", D. MILLER und G. BENEDEK, 1973).

2 Versuche

2.1 Fragestellung

Ziel dieser Arbeit ist es, einen Beitrag zur Klärung der Frage zu leisten, welche Veränderungen in der mikroskopischen Struktur des Corneastromas für die Transparenzminderung im gequollenen Zustand verantwortlich sind.

Es stehen sich die beiden in den Vorbemerkungen beschriebenen Theorien gegenüber: Das Vorhandensein von sogenannten kollagenfreien Zonen (BENEDEK, FARRELL) auf der einen und die entstehende Unordnung in einem im Normalzustand hochgeordneten Fibrillensystem (MAURICE) auf der anderen Seite. Es soll versucht werden, diese beiden Theorien experimentell zu überprüfen. Mit Hilfe eines Modells des Corneastromas wurde die Lichtausbreitung durch die gequollene Cornea nachgeahmt. An verschiedenen vorgegebenen Fibrillenanordnungen wurden Beugungs- und Streuvorgänge gemessen und verglichen.

2.2 Das Modell

Das selbstgebaute Modell des Corneastromas ersetzt die Kollagenfibrillen durch Acrylglasstäbe. Die die Fibrillen umgebende Grundsubstanz wird durch Luft repräsentiert, wobei sich der Brechungsindex von Grundsubstanz zu Kollagen annähernd so verhält wie der Brechungsindex von Acrylglas zu Luft. Davon ausgehend, daß die Vorstellungen von MAURICE über die systematische Fibrillenanordnung, die zumindest über Bereiche von einer bis mehreren Wellenlängen mit Hilfe von Röntgenbeugungsexperimenten bewiesen wurde, zutreffen, wurden die Acrylglasstäbe in einem annähernd hexagonalen Gitter angeordnet. Um den tatsächlichen Verhältnissen in der normalen Cornea möglichst nahe zu kommen, mußten bestimmte Voraussetzungen erfüllt werden: Das Verhältnis zwischen der Dicke und dem Abstand der Acrylglasstäbe und der Wellenlänge des Meßlichts mußte dem Verhältnis zwischen Dicke und Abstand der Kollagenfibrillen und

der Wellenlänge des sichtbaren Lichts entsprechen. Die Wellenlänge des sichtbaren Lichts liegt zwischen 300 nm und 600 nm, der Durchmesser der Kollagenfibrillen liegt bei durchschnittlich 30 nm, ebenso der Abstand zwischen den Fibrillen. Es wurde daher von einem Verhältnis von Wellenlänge zu Durchmesser von 10:1 ausgegangen. Um das gleiche Verhältnis im Modell zu erreichen, wurden bei den Messungen als Lichtquelle Mikrowellen der Wellenlänge 3 cm verwendet. Als Durchmesser der Stäbe wurden 3 mm, als Abstand aus technischen Gründen 2,7 mm verwendet. In 0,5 cm breite und 30 cm lange Acrylglasschienen wurden Löcher von 3 mm Durchmesser mit Zwischenräumen von 2,7 mm gebohrt. In die Löcher wurden 20 cm lange Acrylglasstäbe mit einem Durchmesser von 3 mm gesteckt. Mehrere der so entstandenen Einzelgitter wurden zu einer hexagonalen Gitterformation zusammengestellt. Die Gesamttiefe dieser Gitterformation entspricht der Mikrowellenlänge, so daß man diese Anordnung ohne Änderung physikalischer Gegebenheiten vielfach hintereinander wiederholen kann. Abb. 10 zeigt das Gittermodell innerhalb des Versuchsaufbaus.

2.3 Versuchsaufbau

Mit Hilfe eines Mikrowellenoszillators (NEVA Mikrowellensender der Frequenz 9,35 GHz) werden Mikrowellen durch das Acrylgitter gesendet. Die Wellen werden in einem definierten Meßfeld (Größe 60 x 80 cm) an Punkten von fünf Zentimeter Abstand empfangen (Diode BAV 46). Die Ausgangsspannung der Diode wird mittels eines Lock-in-Detektors (PSD) phasenempfindlich gemessen. Dazu muß jedoch eine Amplitudenmodulation der Mikrowellen durchgeführt werden (Modulationsfrequenz 700 Hz). die Ausgangsspannung kann mit einem digitalen Voltmeter genau abgelesen werden. Abb. 10 zeigt ein Foto, Abb. 9 zeigt das Blockschaltbild des Versuchsaufbaus.

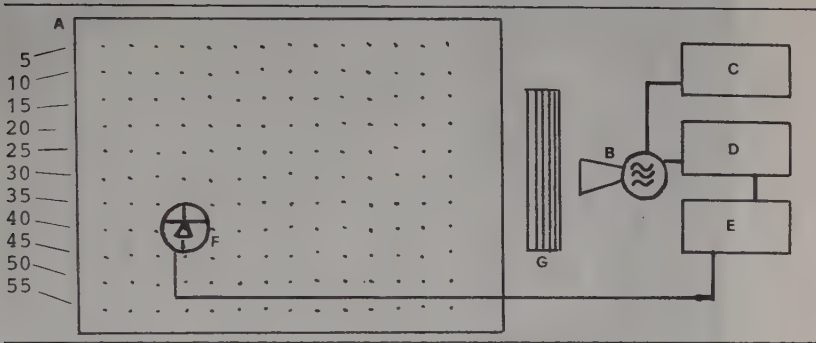


Abb. 9

- a) Meßfeld mit Meßpunkten
- b) Mikrowellensender
- c) Stromversorgungsgerät
- d) Funktionsgenerator
- e) Lock-In
- f) Empfänger
- g) Modell



2.4 Auswertungsverfahren

Zunächst werden der Meßvorgang dargestellt und die Datenauswertung erläutert. Als Beispiel dient eine Messung, in der ein Einzelgitter (Gitterkonstante = 3 mm) in 5 cm Abstand vom Mikrowellenoszillator aufgestellt wurde. Die auf dem Voltmeter an den entsprechenden Meßpunkten abgelesenen Spannungswerte wurden als Zahlenfeld aufgetragen (Abb. 11). Anschließend wurden die Werte in eine Höhendarstellung transformiert (Abb. 12). Aus dieser Höhendarstellung kann man besonders anschaulich alle wesentlichen Informationen über das Verhalten der Mikrowellen nach der Gitterpassage entnehmen. Für unsere Fragestellung wichtig sind hierbei die Breite des Amplitudengebirges als Maß für die Streuung der Mikrowellen und die Lage des Grates des Gebirges als Maß für die Beugung. Für die Auswertung von vielen Messungen ist diese Darstellungsform allerdings weniger gut geeignet, da die Unterschiede schlecht sofort erkennbar sind und die Datenmenge der einzelnen Messung zu groß ist. Das Auswertungsverfahren wurde deshalb so reduziert, daß auf einen Blick die wesentlichen Parameter von Beugung und Streuung erkennbar sind. Statt bei allen Messungen das gesamte Gebirge darzustellen, kann man sich darauf beschränken, jeweils einen Querschnitt der Meßwerte in einem gleichbleibenden Abstand zum Mikrowellenoszillator zu betrachten (Abb. 13). Dieser Querschnitt gibt die zum Vergleich wesentlichen Informationen: Die Breite der Kurve ist ein Maß für die Streuung, und die Lage des höchsten Punktes der Kurve zur Symmetrieachse (Lage von $U_{\max} = d_0$) ist ein Maß für die Beugung.

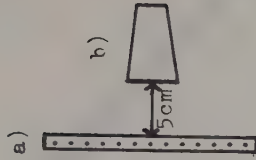
Aus der vorher dargestellten Höhendarstellung kann man entnehmen, daß einerseits ein Querschnitt, der nahe der Mikrowellenquelle liegt, besonders deutlich eine Verbreiterung der Kurve erkennen ließe, andererseits ein Querschnitt weit vom Mikrowellenoszillator entfernt eine Verlagerung der Kurve von der Symmetrieachse besser zeigt. Da für die Betrachtungen beide Phänomene wichtig sind, wurde der Querschnitt

als Kompromiß etwa in der Mitte in einem Abstand von 47,2 cm zur Mikrowellenquelle gelegt.

Aus den durchgeführten Messungen werden im Folgenden repräsentativ die Halbwertsbreite ($d_{1/2}$) und die Lage des Spannungsmaximums ($U_{\max}$) angegeben. Die einzelnen Meßreihen sind im Anhang dokumentiert.

Bei der statistischen Analyse wird der t-Test als parametrischer Lokationstest verwendet. Dabei wird von einer Standardabweichung von $S_1 = 0,242$ für $U_{\max}$ und $S_2 = 0,211$ für $d_{1/2}$ der Normalverteilungen ausgegangen und auf die zweiseitige Alternative getestet.

5	150	130	110	100	90	70	58	56	48	36	19	11	8
10	240	220	240	230	220	185	170	160	110	82	74	64	18
15	340	410	470	440	435	420	380	310	280	170	120	100	48
20	510	540	620	680	800	870	920	960	920	920	530	500	300
25	620	760	870	1000	1230	1450	1700	1950	2200	2500	2800	3200	3000
30	660	800	900	1150	1400	1600	2100	2500	3000	4000	5200	7600	11000
35	630	730	840	1050	1300	1450	1700	2000	2300	2800	3600	4700	5700
40	530	560	620	720	800	920	1000	1200	1280	1400	1350	1300	910
45	380	400	450	500	510	520	540	500	510	450	350	250	130
50	270	280	340	360	330	350	320	270	225	175	105	82	78
55	180	180	170	190	150	140	120	93	63	56	58	42	18



a) Gittermodell
b) Mikrowellen-
oszillator

Abb. 11: Darstellung der Meßwerte im Zahlenfeld

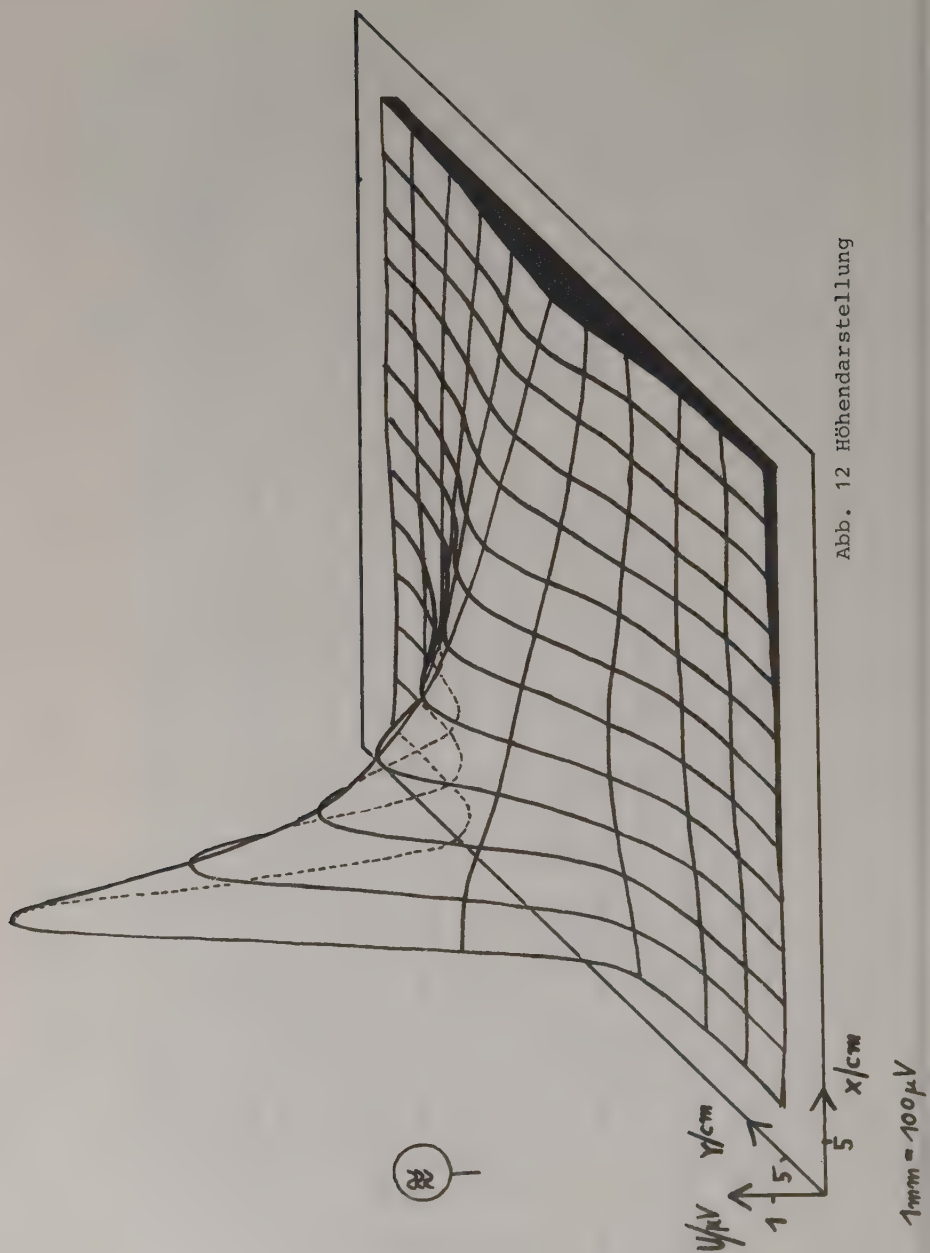


Abb. 12 Höhendarstellung

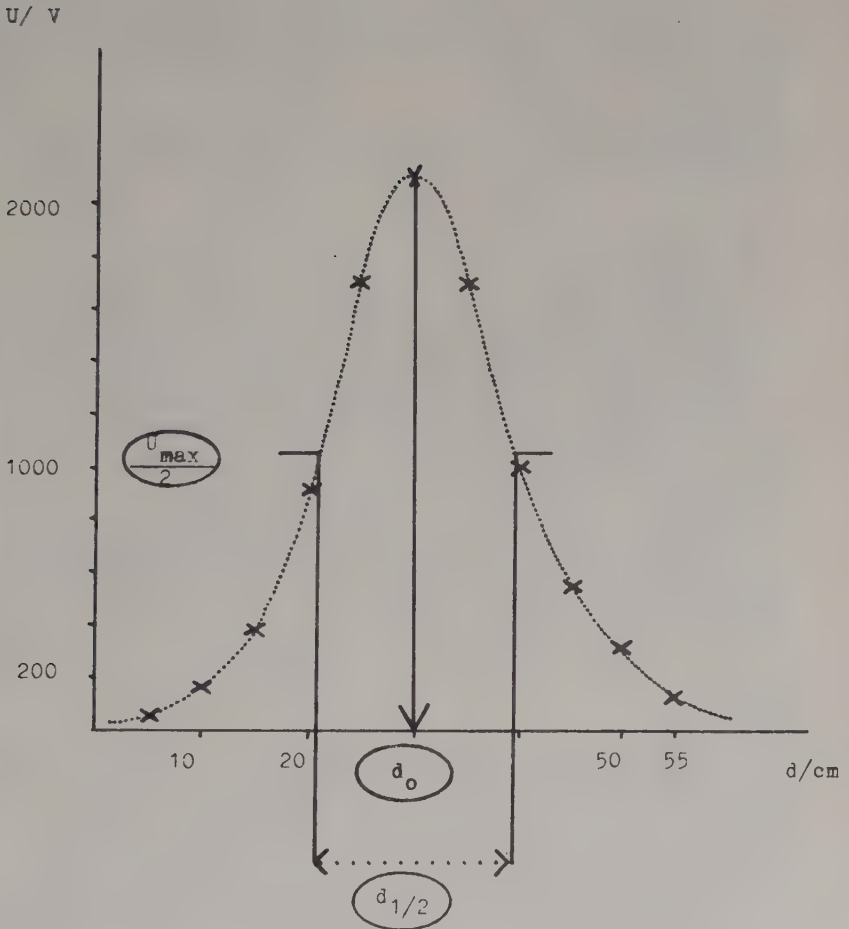


Abb. 13: Darstellung der Meßwerte eines Querschnitts, der in 47,2 cm Abstand zum Mikrowellenoszillator durch das Meßfeld gelegt wurde.

2.5 Messungen

In den ersten orientierenden Meßreihen wurde das Verhalten der Mikrowellen an einem Einzelgitter untersucht, um die Mikrowellenausbreitung zunächst an einem einfachen System darzustellen.

In Meßreihe A wurde die Abhängigkeit der Mikrowellenausbreitung vom Abstand des Gittermodells zur Mikrowellenquelle untersucht. Dazu wurde das Modell in Abständen von drei bis zwölf Zentimetern vom Mikrowellenoszillator aufgestellt (Abb. 14).

In Meßreihe B wurde im Einzelgitter die Gitterkonstante (Abstand der Acrylglasfibrillen) verändert, um festzustellen, ob eine Veränderung der Fibrillenanordnung bereits in dieser einfachen Einheit eine Veränderung der Mikrowellenausbreitung zur Folge hat (Abb. 15).

In Meßreihe C wurden nacheinander fünf Einzelgitter zu einer hexagonalen Gitterformation angeordnet (Abb. 16).

In Meßreihe D wurden Mikrowellenoszillator und -empfänger um neunzig Grad gedreht, um den Einfluß der Polarisation der Mikrowellen zu erfassen (Abb. 17).

In den folgenden Hauptmessungen diente die hexagonale Anordnung von fünf Einzelgittern als Grundmodell einer Kollagenlamelle.

In den Meßreihen E bis G wurde versucht, die Veränderungen in der hexagonalen Fibrillenanordnung, die den Transparenzverlust der Cornea erklären sollen, nachzuahmen. Zunächst wurde Unordnung in das Fibrillensystem gebracht, indem nach bestimmten Mustern Acrylfibrillen aus dem Gitter entfernt wurden (E). Anschließend wurden Lücken im Sinne von kollagenfreien Zonen in das Gittermodell eingebaut (F,G). (Abb. 18, 19,20)

Um die Wiederholbarkeit der Veränderungen der Wellenausbreitung über einen größeren Bereich zu zeigen, wurden Messungen an zwei hexagonalen Gittern, die aus je fünf Einzelgittern bestehen, durchgeführt.

In Meßreihe H (Abb. 21) wurden zehn Einzelgitter in einer

hexagonalen Formation hintereinander aufgebaut, um etwa die Gesamtdicke einer Kollagenlamelle darzustellen (Dicke einer Lamelle in der normalen Cornea 75-500 nm, Verhältnis zur Wellenlänge des sichtbaren Lichts ca. 1:0,6-1:5; Dicke der Modelllamelle 5 cm, Wellenlänge der Mikrowelle 3 cm, Verhältnis Lamellendicke zu Wellenlänge 1:0,6). Anschließend wurden zwei hexagonale Gitter aus je fünf Einzelgittern im rechten Winkel zueinander aufgestellt, entsprechend zwei übereinanderliegenden Lamellen.

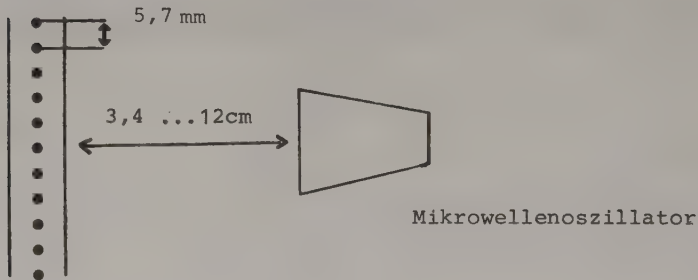
In Meßreihe I wurde ein zweites Acrylmodell nach einer elektronenmikroskopischen Aufnahme der getrübten Cornea von FARRELL et al. (1973), die bis zu einem Fibrillendurchmesser von drei Millimetern vergrößert wurde, gebaut. In der einen Hälfte des Modells liegen die Fibrillen mehr oder weniger zufällig verteilt, die andere Hälfte enthält eine kollagenfreie Zone (Abb. 22). Die Mikrowellenausbreitung wurde an beiden Hälften getrennt gemessen.

Die Reproduzierbarkeit der mit dem Versuchsaufbau ohne Gitter gemessenen Werte zeigt eine Tabelle von zehn Leermessungen im Anhang.

Abb. 14 Meßreihe A

Ein Einzelgitter, Gitterkonstante 5,7 mm

Meßvariable: Abstand zwischen Gitter und Mikrowellenoszillator



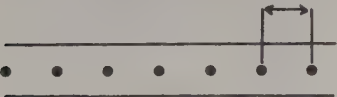
Einzelgitter

	$d_{1/2}/\text{cm}$	Lage von U_{max}/cm
A1 Versuchsaufbau ohne Gitter	20,0	30,5
A2 Abstand 3 cm	19,25	30,5
A3 Abstand 4 cm	21,5	28,5
A4 Abstand 5 cm	21,5	31,5
A5 Abstand 7 cm	22,5	28,5
A6 Abstand 8 cm	19,5	30,5
A7 Abstand 9 cm	21,5	29,0
A8 Abstand 10cm	21,25	28,5
A9 Abstand 11cm	19,0	29,0
A10 Abstand 12 cm	21,5	29,5
A11 Versuchsaufbau ohne Gitter	20,25	29,0

Alle Werte sind nicht signifikant verschieden vom Leermessungswert auf dem 5 %-Niveau.

Abb. 15 Meßreihe B

Ein Einzelgitter, Abstand Gitter-Mikrowellenoszillator 5cm
 Meßvariable: Gitterkonstante

	$d_{1/2}/\text{cm}$	Lage v. U_{max}/cm
B1 Versuchsaufbau ohne Gitter	20,0	30,5
B2 Gitterkonstante 5,7mm	18,5	30,0
		
B3 Gitterkonstante 11,4mm	18,75	29,0
		
B4 Gitterkonstante 17,1mm	19,5	29,5
		
B5 Gitterkonstante 34,2mm	19,75	29,0
		

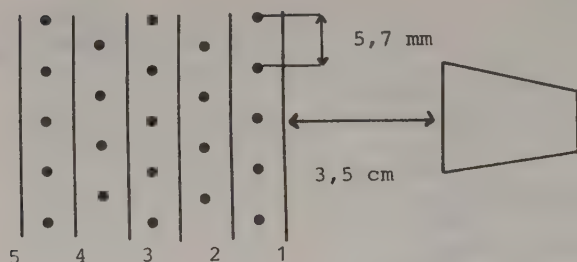
Alle Werte sind nicht signifikant verschieden vom Leermessungswert auf dem 5 %-Niveau.

Abb. 16 Meßreihe C

Meßvariable: Gitteranzahl

Gitterkonstante 5,7mm

Abstand Gitter 1 - Mikrowellenoszillator 3,5 cm



	d1/2/cm	Lage von U _{max} /cm
C1 Versuchsaufbau ohne Gitter	20,25	29,0
C2 mit 1 Gitter	19,0	29,0
C3 mit 2 Gittern	20,5	29,0
C4 mit 3 Gittern	21,0	29,0
C5 mit 4 Gittern	20,0	28,5
C6 mit 5 Gittern	21,0	29,0

Alle Werte sind nicht signifikant verschieden vom Leermessungswert auf dem 5 %-Niveau.

Abb. 17 Meßreihe D

Versuchsaufbau um 90 Grad gedreht

	d1/2/cm	Lage von U _{max} /cm
D1 ohne Gitter	23,25	29,0
D2 mit 5 Gittern	24,0	28,5

Abb. 18 Meßreihe E

Hexagonale Gitterformation (5 Einzelgitter hintereinander)
Veränderung der Fibrillenordnung nach MAURICE

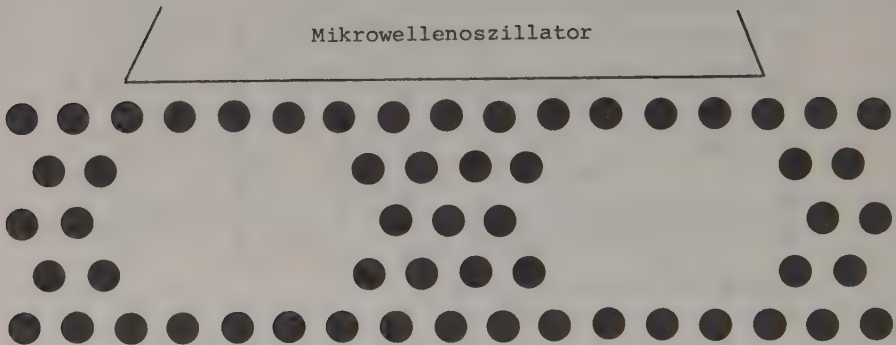
	$d_{1/2}/\text{cm}$	Lage von U_{max}/cm
E1 Versuchsaufbau ohne Gitter	20,25	29,0
E2 Hexagonale Gitterformation	21,25	30,0
E3 Fibrillenordnung a)	21,0	30,0
E4 Fibrillenordnung b)	21,75	30,0
E5 Fibrillenordnung c)	22,0	30,0
E6 Fibrillenordnung d)	21,75	30,0
E7 Fibrillenordnung e)	22,0	30,0
E8 Fibrillenordnung f)	21,5	30,0

Es besteht bei keiner der Messungen ein signifikanter Unterschied zur Leermessung auf dem 5 %-Niveau.

Abb. 19 Meßreihe F

Hexagonale Gitterformation

Darstellung von kollagenfreien Zonen nach BENEDEK u.a.



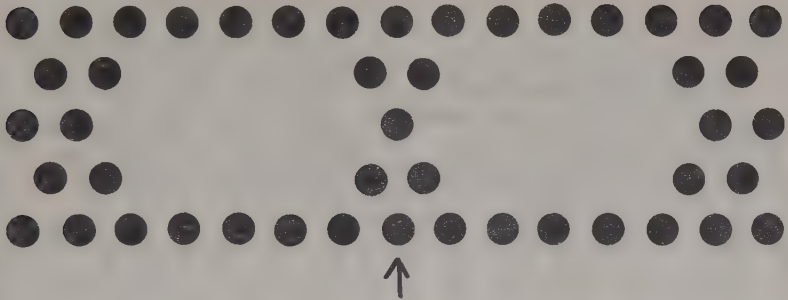
	$d_{1/2}/\text{cm}$	Lage v. U_{max}/cm
F1 hexagonales Gitter	22,5	29,0
F2 Lücke re von Mo	24,5	36,0
F3 Lücke li von Mo	25,0	24,0
F4 2 Lücken re u. li von Mo	25,0	30,0
F5 hexagonales Gitter	22,5	29,0

Die Werte von U_{max} für F2 und F3 sind vom Leerwert auf dem 0,5 %-Niveau signifikant verschieden, ebenso die Werte für $d_{1/2}$ für F2, F3 und F4.

Abb. 20 Meßreihe G

Hexagonale Gitterformation, 2 Lücken der Größe 2×3 cm in der Mitte des Gitters

Meßvariable: Abstand zwischen den Lücken



	$d_{1/2}/\text{cm}$	Lage v. U_{max}/cm
G1 hexagonales Gitter	21,5	29,5
G2 1 Stab zw. den Lücken	28,5	30,0
G3 3 Stäbe zw. den Lücken	23,0	28,5
G4 5 Stäbe zw. den Lücken	20,25	28,5

Die Werte von $d_{1/2}$ für G2, G3 und G4 sind vom Leerwert auf dem 1 %-Niveau signifikant verschieden.

Abb. 21 Meßreihe H

Zwei hexagonale Gitter

	$d_{1/2}/\text{cm}$	Lage v. U_{max}/cm
H1 Versuchsaufbau ohne Gitter	20,5	28,5
H2 Ein hexagonales Gitter	19,0	28,75
H3 Zwei hexagonale Gitter parallel zueinander	20,0	28,5
H4 Zwei hexagonale Gitter im rechten Winkel	19,5	28,0

Abb. 22a Meßreihe I

Acrylmodell nach einem elektronenmikroskopischen Foto der
getrübten Cornea (siehe 2.5)

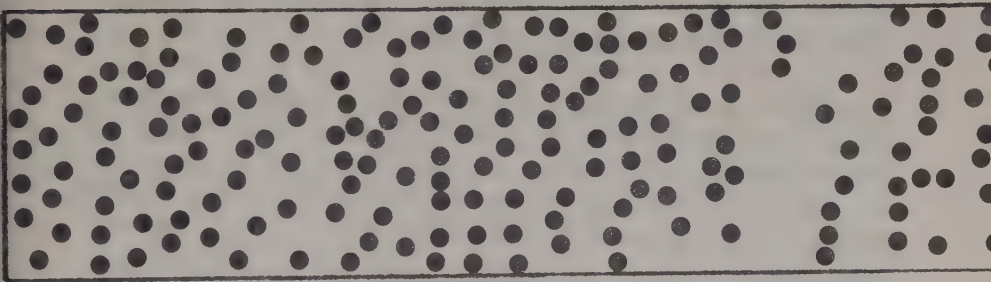
	$d_{1/2}/\text{cm}$	Lage v. U_{max}/cm
I1 Versuchsaufbau ohne Gitter	21,5	29,0
I2 Zufällige Fibrillenverteilung (normales Stroma)	22,0	28,5
I3 Fibrillenfreie Zone	25,5	31,0
I4 Versuchsaufbau ohne Gitter	21,5	29,0

Der Wert von $d_{1/2}$ für I3 ist auf dem 1 %-Niveau, der Wert von U_{max} für I3 ist auf dem 5 %-Niveau signifikant vom Leerwert verschieden.

Abb. 22 b:

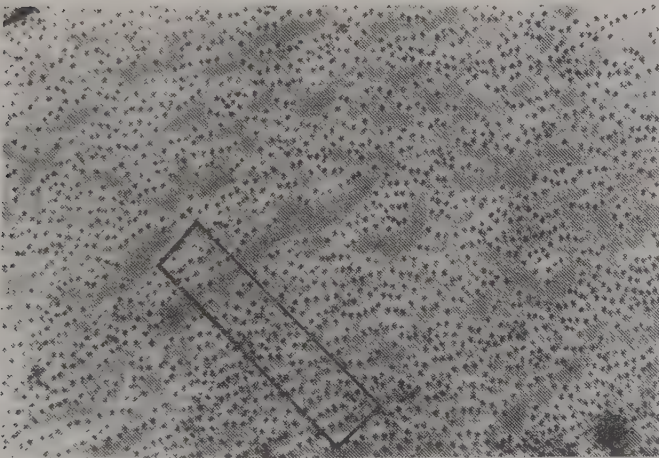
oben: Aufsicht auf das Acrylmodell, das nach einem elektronenmikroskopischen Foto der getrübten Cornea angefertigt wurde.

unten: Foto des gequollenen Corneastromas (FARRELL et al. 1973).



zufällige Fibrillenverteilung

⏟
kollagenfreie Zone



3 Ergebnisse

Vor dem Gesamtergebnis sollen die Ergebnisse der einzelnen Meßreihen erläutert werden.

Vormessungen:

Ziel der Vormessungen war es, die wesentlichen Parameter für die Anwendbarkeit des Modells an sich und in der vorgegebenen Versuchsanordnung zu prüfen.

In Meßreihe A, in der der Abstand zwischen dem Gittermodell und dem Mikrowellenoszillator variiert wurde, tritt weder eine systematische Veränderung der Halbwertsbreite als Maß für die Streuung, noch eine systematische Veränderung der Lage des Spannungsmaximums zur Symmetrieachse als Maß für die Beugung des Lichts auf. Die Werte liegen statistisch verteilt um die Mittelwerte $d_{1/2} = 20,8$ und $d_0 = 29,5$ (siehe Abbildung 22).

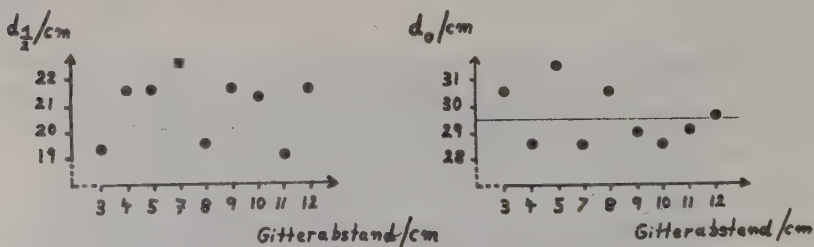


Abb. 22: Schwankungsbereich der Meßwerte der Meßreihe A

Die Schwankungen könnten durch die hohe Empfindlichkeit der Geräte auf äußere Störfaktoren erklärt werden. Da keine systematische Veränderung der Streuungs- bzw. Beugungsparameter erkennbar ist, spielt der Abstand des Einzelgitters vom Mikrowellenoszillator für die Ausbreitung der Mikrowellen nur eine untergeordnete Rolle.

Variiert man die Gitterkonstante (Messung B), so ist mit zu-

nehmendem Abstand der Acrylfibrillen eine geringe Verbreiterung der Kurve feststellbar (Abb. 23)

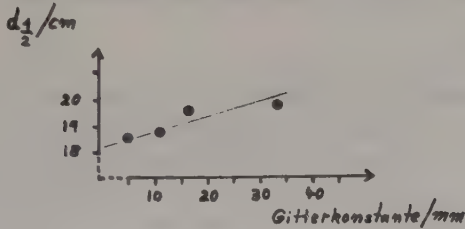


Abb. 23: Grafische Darstellung der Meßwerte aus Meßreihe B.

Wie nach den Abstandsmessungen zu erwarten, ändern sich Halbwertsbreite und die Lage des Spannungsmaximums auch bei schrittweiser Erhöhung der Gitteranzahl bis zum vollständigen hexagonalen Gitter nur unwesentlich (Messung C). Daraus folgt, daß das Modell wie das normale Corneastroma die Ausbreitung des Lichts nur sehr gering beeinflusst, also transparent ist.

Den Einfluß der Polarisierung der Mikrowellen zu überprüfen (Meßreihe D) erschien sinnvoll, da man weiß, daß die Cornea doppelbrechende Eigenschaften besitzt, das heißt polarisiertes Licht selektiv durchläßt (STANWORTH and NAYLOR, 1953). Im Versuchsaufbau verändern sich aber weder die Halbwertsbreite noch die Lage des Spannungsmaximums.

Hauptmessungen:

Eine Veränderung der Wellenausbreitung durch Veränderung der Fibrillenordnung im Sinne von MAURICE kann nicht gezeigt werden (Messung E). Nach seiner Theorie hätte durch das Auseinanderweichen der Fibrillen das Licht vermehrt gestreut werden müsse, d. h. die Halbwertsbreite signifikant ansteigen und die Lage des Spannungsmaximums sich verschieben müssen. Beide Phänomene lassen sich in den vorliegenden Messungen nicht darstellen: Die Meßwerte von U_{max} sind konstant und die

Schwankungen in der Halbwertsbreite noch geringer als in den Vormessungen. Ursache dafür wird die in den verschiedenen Variationen der Fibrillenordnung erhaltene homogene Verteilung von Teilchen, die kleiner als ein Zehntel der Wellenlänge sind, sein.

In Meßreihe F wurde die Reaktion der Mikrowellen auf in das hexagonale Gitter eingebaute fibrillenfreie Zonen (BENEDEK) geprüft. In den Messungen F2 und F3 kann gezeigt werden, daß eine Lücke von etwa der Größe der Wellenlänge in der Lage ist, eine vermehrte Streuung bzw. Beugung der Mikrowellen hervorzurufen: Es sind deutliche Unterschiede der Meßwerte im Vergleich zum vollständigen hexagonalen Gitter festzustellen. Die Halbwertsbreite steigt um 9 % bzw. 11 %, die Lage des Spannungsmaximums verändert sich um 11 % bzw. 8 %. In Messung F4 verursachen zwei in gleichem Abstand zur Gittermitte eingebaute gleichgroße Lücken zwar eine deutliche Verbreiterung des Strahls ($d_{1/2}$ steigt um 11 %), die Lage des Spannungsmaximums ändert sich nur geringfügig ($\Delta = 1,5$); das heißt, die Mikrowellen sind nicht oder nur sehr wenig gebeugt worden, wofür wohl die symmetrische Anordnung der beiden Lücken verantwortlich ist.

Es stellt sich die Frage, in welchem Abstand voneinander zwei Gitterlücken als unabhängig voneinander streuend betrachtet werden können. In Messung G, in der zwei fibrillenfreie Zonen von der Gittermitte nach außen verschoben wurden, tritt bei einem Zwischenraum von drei Millimetern eine so deutliche Verbreiterung der Kurve auf ($d_{1/2}$ wächst um 32 %), daß man sicher sein kann, daß die beiden Lücken wie eine große Lücke wirken. Geht man mit den Lücken weiter auseinander, wird die Halbwertsbreite schnell geringer; bereits bei 1,7cm Zwischenraum ist eine signifikante Vergrößerung von $d_{1/2}$ nicht gegeben. Den Abstand noch weiter zu vergrößern ist sinnlos, da die Lücken dann außerhalb des Bereichs der maximalen Intensität des Mikrowellenfeldes liegen würden.

Meßreihe H, in der zwei hexagonale Gitter einmal hintereinander und einmal in rechtem Winkel zueinander standen, zeigt, daß das intakte hexagonale Gitter unabhängig von seiner Dicke die Mikrowellen kaum in ihrer Orientierung beeinflusst.

Mit Hilfe des für Meßreihe I neu gebauten Modells, das einen Ausschnitt aus einem elektronenmikroskopischen Foto der getrübten Cornea originalgetreu wiedergibt, gelingt es, die bisher gefundenen Ergebnisse zu bekräftigen: Die Messung im Bereich der ungeordneten Fibrillenstruktur ergibt wie erwartet keine Veränderung der Mikrowellenausbreitung. Im Bereich der fibrillenf freien Zone kommt es zu einer deutlichen Beugung und Streuung der Mikrowellen, hier ist also die Transparenz verloren gegangen.

Schlußfolgerungen:

- 1.) Der Acrylglasaufbau kann in Bezug auf die Lichtdurchlässigkeit als Modell für ein hochgeordnetes Corneastroma gelten. Er streut das Licht nur zu einem geringen Teil, das heißt, die hexagonale Fibrillen anordnung ist transparent.
- 2.) Die nach der Theorie von MAURICE bei Trübung der Cornea auseinanderweichenden Kollagenfibrillen können den Transparenzverlust nicht erklären, sie rufen keine vermehrte Lichtstreuung hervor.
Auch eine zufällige aber homogene Fibrillenverteilung ist mit Transparenz vereinbar.
- 3.) Die von BENEDEK und anderen postulierten, bei Trübung entstehenden kollagenfreien Zonen, die mindestens so groß wie die Wellenlänge sind, können die Transparenzminderung erklären. Es erscheint daher unwahrscheinlich, daß sie nur ein Fixierungsartefakt sind.

4 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit ist es, den Zusammenhang zwischen der Anordnung der Kollagenfibrillen im Corneastroma und der Transparenz der Cornea darzustellen.

Die Transparenz der normalen Cornea resultiert aus ihrer sehr geringen Lichtstreuung und -absorption. Für den Verlust der Transparenz der gequollenen Cornea ist eine vermehrte Lichtstreuung verantwortlich. Die Stärke der Streuung ist abhängig von der Anordnung der Kollagenfibrillen im Stroma.

MAURICE (1957) postulierte, daß eine hochgeordnete Fibrillenverteilung im Sinne eines hexagonalen Gitters für die Transparenz der normalen Cornea und ein Verlust dieser Regularität für die Trübung der gequollenen Hornhaut verantwortlich wäre. Diese exakte Gitterstruktur der Kollagenfibrillen konnte von anderen Wissenschaftlern in elektronenmikroskopischen Aufnahmen allerdings nicht gefunden werden. Eine zufällige Fibrillenverteilung mit dazwischenliegenden Bereichen höherer Ordnung ist doch ebenfalls mit Transparenz vereinbar. In elektronenmikroskopischen Aufnahmen der gequollenen Cornea sah BENEDEK (1967) größere Regionen ohne Kollagenfibrillen. Er ist der Meinung, daß diese kollagenfreien Zonen für den Transparenzverlust verantwortlich sind. Die vorliegenden Untersuchungen stellen die beiden Theorien gegenüber und überprüfen sie auf ihre Gültigkeit.

An einem Gittermodell aus Acrylglas, durch welches die Kollagenfibrillenverteilung im Corneastroma dargestellt werden kann, wurden Streuungsmessungen von Mikrowellen durchgeführt. Das Modell besteht aus mehreren hintereinanderstehenden Acrylfibrillenreihen. Durchmesser und Zwischenräume der Acrylfibrillen stehen im gleichen Verhältnis zur Mikrowellenlänge wie Durchmesser und Zwischenräume der Kollagenfibrillen der Cornea zur Wellenlänge des sichtbaren Lichts. Bei verschiedenen vorgegebenen Fibrillenarrangements wurde die Ausbreitung der Mikrowellen gemessen.

Die Meßergebnisse zeigen, daß sowohl eine hexagonale Anord-

nung der Acrylfibrillen als auch eine zufällige Verteilung keine Veränderung der Mikrowellenausbreitung nach Gitterpassage hervorrufen, daß somit beide Strukturen transparent sind. Eine deutliche Beugung und Streuung des einfallenden Lichts tritt auf, wenn man aus dem Gitter ganze Gruppen von Acrylstäben entfernt, so daß fibrillenfreie Zonen von etwa der Größe der Wellenlänge entstehen. An einem zweiten Acrylmodell, das nach einem auf die entsprechenden Maße vergrößerten elektronenmikroskopischen Bild der getrübten Cornea angefertigt wurde und in dem sowohl ein Bezirk ungeordneter Fibrillenverteilung, als auch eine kollagenfreie Zone dargestellt ist, konnten diese Ergebnisse bestätigt werden.

Geht man davon aus, daß die Modelle die streuenden Eigenschaften des Corneastromas genügend exakt repräsentieren, kann man folgende Schlußfolgerungen ziehen:

- 1) Unabhängig davon, ob die Kollagenfibrillen im normalen Corneastroma eher geordnet oder eher zufällig verteilt sind, ist das Corneastroma transparent. Eine homogene Unordnung der Fibrillen im gequollenen Corneastroma kann also nicht die Erklärung für den Transparenzverlust sein.
- 2) Kollagenfreie Zonen von der Größe der Wellenlänge des Lichts sind in der Lage, den Transparenzverlust der gequollenen Hornhaut zu erklären. Es scheint daher unwahrscheinlich, daß sie ein Artefakt elektronenmikroskopischer Fixierung sind.

5. Anhang

Leermessungen: Meßanordnung ohne Gitter

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
5	120	110	120	115	110	110	110	110	110	110
10	230	230	230	235	235	240	240	240	240	240
15	570	590	600	590	580	590	590	610	620	600
20	1100	1100	1120	1150	1100	1100	1100	1100	1100	1100
25	1700	1700	1700	1700	1700	1700	1700	1700	1700	1700
30	1900	1900	1900	1930	1900	1900	1920	1900	1900	1900
35	1400	1400	1400	1400	1400	1400	1400	1400	1400	1410
40	880	920	900	920	920	940	900	940	950	930
45	550	540	540	560	560	560	560	560	560	540
50	240	240	235	240	235	240	240	235	240	230
55	110	110	110	100	110	110	105	100	110	105
Lage v $U_{\max}$	28,5	28,5	28,5	28,5	28,5	28,0	28,5	28,0	28,0	28,5
$d_{1/2}$	20	20	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5

Mittelwert der Lage von $U_{\max}$, $\bar{U}_{\max} = 28,35$

Standardabweichung der Lage von $U_{\max}$, $\Delta U_{\max} = 0,242$

Mittelwert $d_{1/2} = \bar{d}_{1/2} = 20,4$

Standardabweichung $d_{1/2} = \Delta d_{1/2} = 0,211$

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11
5	72	31	65	78	80	60	64	62	42	60	60
10	220	120	170	180	210	170	200	210	125	165	170
15	450	290	400	460	430	410	420	470	420	460	425
20	980	760	780	930	820	920	820	890	800	780	920
25	1600	1400	1250	1450	1300	1550	1300	1500	1350	1350	1500
30	2100	1800	1400	1800	1400	1950	1520	1700	1700	1500	1750
35	1650	1450	1150	1550	1200	1600	1220	1350	1300	1300	1350
40	1130	930	740	1000	840	1000	800	980	860	800	900
45	590	450	410	600	470	570	450	570	520	490	500
50	310	240	250	320	280	280	250	315	265	250	270
55	125	78	85	115	120	97	90	120	78	110	98
$d_{1/2}$	20	19,25	21,5	21,5	22,5	19,5	21,25	21,25	19,0	21,5	20,25
Lage U_{Max}	30,5	30,5	28,5	31,5	28,5	30,5	29,0	28,5	29,0	29,5	29,0

	B1	B2	B3	B4	B5	D1	D2
5	72	58	84	78	64	140	270
10	220	170	210	200	200	470	390
15	450	380	490	460	480	840	1100
20	980	920	1100	1000	1000	1450	1750
25	1600	1700	1800	1700	1700	2050	2350
30	2100	2100	2200	2000	2000	2200	2550
35	1650	1700	1600	1580	1550	1900	2100
40	1130	1000	980	1000	980	1300	1500
45	590	540	560	540	560	600	730
50	310	320	300	300	300	310	350
55	125	120	100	120	100	64	100
$d_{1/2}$	20,0	18,5	19,0	20,0	19,75	23,25	24,0
Lage							
$U_{\max}$	30,5	30,0	29,0	29,5	29,0	29,0	28,5

	C1	C2	C3	C4	C5	C6
5	84	120	98	85	120	88
10	190	240	180	170	200	170
15	480	600	500	520	560	490
20	920	980	860	930	900	850
25	1500	1700	1400	1600	1700	1450
30	1750	2000	1700	1750	1900	1600
35	1380	1500	1300	1450	1500	1300
40	890	960	920	960	960	900
45	530	600	530	520	560	520
50	270	320	260	250	270	260
55	100	135	120	84	115	115
$d_{1/2}$	20,25	19,0	20,5	21,0	20,0	21,0
Lage	29,0	29,0	29,0	29,5	28,5	29,0
$U_{\max}$						

	F1	F2	F3	F4	F5
5	68	230	68	24	84
10	150	480	45	140	210
15	440	880	140	450	540
20	870	1100	340	720	1000
25	1350	1200	700	1000	1400
30	1470	1000	1000	1150	1600
35	1200	700	1150	1000	1200
40	840	450	1050	740	800
45	470	280	800	420	450
50	200	160	460	180	200
55	88	140	210	66	90
$d_{1/2}$	22,5	24,5	25,0	25,0	22,5
Lage	29,0	36,0	24,0	30,0	29,0
$U_{\max}$					

	G1	G2	G3	G4
5	86	70	10	2
10	210	240	125	86
15	480	520	440	370
20	960	850	900	900
25	1400	1100	1300	1400
30	1500	1100	1400	1600
35	1300	1050	1150	1200
40	870	800	780	760
45	410	510	400	340
50	190	240	120	80
55	70	92	29	10
$d_{1/2}$	21,5	28,5	23,0	20,25
Lage	29,5	30,0	28,5	28,5
$U_{\max}$				

	I1	I2	I3	I4
5	100	200	200	100
10	350	350	350	350
15	750	700	500	750
20	1300	1250	950	1400
25	1900	1700	1300	2000
30	2150	1800	1550	2200
35	1650	1400	1400	1700
40	1000	900	1000	1050
45	500	550	750	500
50	200	300	450	250
55	100	150	250	100
$d_{1/2}$	21,5	22,0	25,5	21,5
Lage $U_{\max}$	29,0	28,5	31,0	29,0

6 Literatur

- ADLER's physiology of the eye (1981). Ed. Moses, 7. Aufl.
The C.V. Mosby Company
- AUBERT, H. und MATTHIESSEN, L. (1876).
In "Graefe-Saemisch Handbuch der gesamten Augen-
heilkunde". Vol. 2, 409, 1. Aufl., Engelmann
Leipzig
- BENEDEK, G.B. (1971).
Theory of transparency of the eye.
Appl. Optics 10, 459-473
- BENEDEK, G.B. (1973).
Theory of light scattering. In "Intraocular light
scattering, theory and clinical applications".
Charles C. Thomas, Springfield
- BOETTNER, E.A. and WOLTER, J.R. (1962).
Transmission of the ocular media.
Invest. Opht. 1, 776-783
- COX, J.L.; FARRELL, R.A.; HART, R.W. and LANGHAM, M.E. (1970).
The transparency of the mammalian cornea.
J. Physiol. 210, 601-616
- DAVSON, H. (1955).
The hydration of the cornea. Biochem. J. 59, 24-28.
- DAVSON, H. (1969).
The eye 1. Vegetative physiology and biochemistry.
2end ed., Academic Press, New York

DAVSON, H. (1980).

Physiology of the eye. 4ed, Church. Livingst.
London

DUKE-ELDER, W.S. (1958).

Physiology of the eye. In "System of ophtalm".
Vol. 2, Kimpton London

DUKE-ELDER, W.S. (1958).

The eye in evolution. In "System of ophtalm".
Vol. 1, Kimpton London

DUKE-ELDER, S. and PERKINS, E.S. (1960).

The transparency of the cornea. Symposium,
Oxford, Ed.: Blackwell

EINSTEIN, A. (1910).

Theorie der Opaleszenz von homogenen Flüssigkeits-
gemischen in der Nähe des kritischen Zustandes.
Ann. Phys. (4), Bd. 33, 1275

FARRELL, R.A.; MC CALLY, R.L. and TATHAM, P.E.R. †. (1973)

Wave length dependencies of light scattering in
normal and cold swollen rabbit corneas and their
structural applications.
J. Physiol. 233, 589-612

FEUK, T. (1970).

On the transparency of the stroma in the
mammalian cornea. IEEE Trans. bio.-med. Engng
BME 17, 186-190

FRANCOIS, J.; BAYE, R.A. und VANDERMEERSCH, A. (1954).

Etude de la cornée et de la sclérotique.
Ophthalmologica Basel 127, 74-85

- FRANCOIS and RABAEY, M. (1959).
The anatomy of cornea. In "The transparency of the eye". A symposium by the council for international organisations of medical sciences, Blackwell scientific publications, Oxford
- GOLDMANN, J.N. and BENEDEK, G.B. (1967).
The relationship between morphology and transparency in the non-swelling corneal stroma of the shark. Invest. Ophthalmol. 6, 574-600
- GOLDMANN, J.N.; BENEDEK, G.B.; DOHLMAN, C.H. and KRAVITT, B. (1968).
Structural alterations affecting transparency in swollen human corneas. Invest Ophthalmol. 7, 501-519
- GOODFELLOW, J.M. (1978).
X-ray diffraction studies of the corneal stroma. J. Mol. Biol. 119, 237-252
- HIS, W. (1856).
Beiträge zur normalen und pathologischen Histologie der Cornea. Schweighauser, Basel
- HART, R.W. and FARRELL, R.A. (1968).
Light scattering in the cornea. J. of opt. soc. of Amer. 59, 6
- HOSEMANN, R. und andere (1980).
Kollagen Einschlußverbindungen. Z. Naturforsch. 35c, 177-187
- JACUS, M.A. (1954).
Studies on the cornea I: the fine structure of the rat cornea. Am. J. Opt. 38, 40-52

JACUS, M.A. (1961).

The fine structure of the human cornea.
In "The structure of the eye".
G.K. Smelser ed., Academic Press, New York

KINSEY, V.E. (1948).

Spectral transmission of the eye to ultraviolet radiation. Arch. Ophthal. Chicago 39, 508-513

MATHEWS, M.B. (1965).

The interaction of collagen and acid mucopolysaccharides. Biochem. J. 96, 710

MAURICE, D.M. (1957).

The structure and transparency of the cornea.
J. Physiol. 136, 263-286

MAURICE, D.M. and RILEY, M.V. (1968).

The biochemistry of the cornea. In "The biochemistry of the eye". (C.N. Graymore ed.), Academic Press, London

MAURICE, D.M. (1969).

The cornea and sclera. In "The eye".
Ed. Davson, Vol. 1, 489-600, Acad. Press, London

MILLER, D. und BENEDEK, G.B. (1973).

Intraocular light scattering. Ed. By Charles C. Thomas, Springfield Illinois

NAYLOR, E.J. (1953).

The structure of the cornea as revealed by polarised light. Quart. J. micr. Sci. 94, 83-88

OGILVIE, J.C. (1953).

Ultraviolet radiation and vision.
Arch. Ophthal. Chicago 50, 748-763

- PAYRAU, P.; POULIQUEN, Y.; FAURE, D.P. et OFFRET, G. (1967).
La transparence de la cornée. Les mécanismes de
ses altérations. Masson et Cie, Paris
- ROUILLER, C.; DANON, D. et RYTER, A. (1954).
Application de la microscopie électronique à
l'étude de la cornée. Acta anat. 20, 39-52
- SALZMANN, M. (1912).
The anatomy and histology of the human eyeball in
the normal state, its development and senescence.
Univers. Press Chicago
- SEILER, T.; WEISSMANTEL, U. und WOLLENSAK, J. (1983).
Beiträge zur Transparenztheorie der Cornea. Klin.
Monatsbl. Augenheilk., Bd. 182, 595
- SMITH, J.W. (1968).
The transparency of the corneal stroma.
Vision Res. 9, 393-396
- SMOLUCHOWSKY, M. von (1908).
Molekularkinetische Theorie der Opaleszenz von
Gasen im kritischen Zustande sowie einiger ver-
wandter Erscheinungen. Ann. Physik 4, Bd. 25, 205
- SCHWARZ, W. (1953).
Elektronenmikroskopische Untersuchungen über den
Aufbau der Sclera und Cornea des Menschen.
Z. Zellforsch. 38, 20-44
- SCHWARZ, W. und KEYSERLINCK, D. Graf von (1966).
Über die Feinstruktur der menschlichen Cornea mit
besonderer Berücksichtigung des Problems der
Transparenz.
Z. Zellforsch. 73, 540-548

STANWORTH , A. and NAYLOR, E.S. (1953).

Polarized light studies of the cornea.

J. exp. Biol. 30, 164-169

VIRCHOW, H. (1910).

In "Graefe Saemisch Handbuch der gesamten Augen-
heilkunde". Bd. 1, 2. Aufl., Engelmann Leipzig

VRABEC, C.F. (1965).

Migration of limbal melanocytes into the corneal
epithelium of guinea-pigs.

Expl. Eye Res. 4, 42-47

Ich danke Herrn Prof. Dr. med Wollensak
für das Thema und die Möglichkeit, an
seiner Klinik hierfür arbeiten zu können.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. T. Seiler
für die jederzeit gewährte freundliche
Hilfe und Unterstützung.

Lebenslauf

Name: Claudia-Regine Laudon
Geburtsdatum
und -ort: 9.9.1956 in Berlin

Eltern: Dr. med. Heinz Laudon und
Ruth Laudon

Meine schulische Ausbildung habe ich am 16.12.1975 mit dem
Abitur an der Lilienthal-Oberschule abgeschlossen.
1976 - 1977 besuchte ich die Krankenpflegeschule im Auguste-
Viktoria-Krankenhaus.
Seit 1977 studiere ich Humanmedizin an der Freien Universität
Berlin, das Studium habe ich im Mai 1983 mit der Approbation
abgeschlossen.

Papyrus-Druck GmbH Berlin ☎ 3416451
Dissertationen